

Efek Pemberian Ekstrak Etanol Akar Rumput Belulang (*Eleusine indica* L. Gaertn) Terhadap Penurunan Jumlah Bakteri pada Mencit (*Mus musculus*) yang Diinokulasi *Salmonella typhi*

Idhul Ade Rikit Fitra*

Sahidin**

Abdul Karim***

*Program Pendidikan Dokter UHO

** Bagian Kimia Bahan Alam Prodi Farmasi F. MIPA UHO

*** Bagian Patologi Klinik FK UHO

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek dari pemberian ekstrak etanol akar rumput belulang (*E. indica* L. Gaertn) terhadap penurunan jumlah bakteri pada hepar mencit (*Mus musculus*) yang diinokulasi *S. typhi*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *the post-test only control group design*. Dua puluh ekor mencit dibagi menjadi 4 kelompok, satu kelompok kontrol dan tiga kelompok uji. Kelompok I tidak diberi ekstrak etanol akar rumput belulang sebagai K. Kelompok II diberi ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 10 mg/ekor sebagai Uji I. Kelompok III diberi ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 20 mg/ekor sebagai Uji II. Kelompok IV diberi ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 40 mg/ekor sebagai Uji III. Semua kelompok diberi pakan standar pada hari ke-1 sampai hari ke-7. Pada hari ke-8 mencit diinokulasi *S. typhi* 1×10^6 , setelah 2 jam mencit diberi ekstrak etanol akar rumput belulang pada kelompok uji dan Aquadest pada kelompok kontrol. Setelah 24 jam mencit didekapitasi dan diambil heparnya untuk menghitung jumlah koloni bakteri pada jaringan hepar. Rerata jumlah bakteri pada pengenceran ke-2 didapatkan kelompok K = 26.78, kelompok Uji I = 28.28, kelompok Uji II = 24.74, dan kelompok Uji III = 7.98. Uji *Mann-Whitney U* didapatkan perbedaan signifikan antara kelompok K dengan Uji III $p=0.008$, Uji I dengan Uji III $p=0.007$, dan Uji II dengan Uji III $p=0.009(p<0,05)$. Ekstrak etanol akar rumput belulang dapat menurunkan jumlah koloni bakteri pada mencit yang diinokulasi *S. typhi* pada tiap-tiap dosis.

Kata Kunci : Akar rumput belulang, Koloni bakteri, Hepar, *Salmonella typhi*

PENDAHULUAN

Demam tifoid merupakan suatu penyakit infeksi sistemik yang disebabkan oleh *Salmonella typhi* yang masih dijumpai secara luas di berbagai negara berkembang yang terutama terletak di daerah tropis dan subtropis. Penyakit ini juga merupakan masalah kesehatan masyarakat yang penting karena penyebarannya berkaitan erat dengan urbanisasi, kepadatan penduduk, kesehatan lingkungan, sumber air dan sanitasi yang buruk serta standar kebersihan pada industri pengolahan makanan yang masih rendah (Cleary TG, 2000).

Data World Health Organization (WHO) tahun 2003 memperkirakan terdapat sekitar 17 juta

kasus demam tifoid di seluruh dunia dengan insidensi 600.000 kasus kematian tiap tahun dan 70% kematian terjadi di Asia. Prevalensi di Asia jauh lebih banyak sekitar 900/1000 penduduk pertahun. Indonesia merupakan negara endemik tifoid. Diperkirakan terdapat 800 penderita per 100.000 penduduk setiap tahun yang ditemukan sepanjang tahun. Penyakit ini tersebar di seluruh wilayah dengan insiden yang tidak berbeda jauh antar daerah (Widoyono, 2011).

Hasil penelitian melaporkan bahwa telah terjadinya *multidrug resistance* pada *S. typhi* di beberapa negara tropis. Pemakaian antibiotik yang tidak rasional dan adanya

perubahan intrinsik di dalam mikroba merupakan penyebab *multidrug resistance* ini. Golongan antibiotik tersebut adalah kloramfenikol, ampicilin, amoksisilin, dan kotrimoksazol (Hadinegoro, 1999).

Indonesia sejak dulu hingga sekarang memiliki banyak sumber daya alam yang dimanfaatkan sebagai obat tradisional salah satunya adalah akar rumput yang digunakan sebagai obat demam, diare, rambut rontok dan sebagai antibiotik (Habibah, 2010).

Rumput belulang suku Graminae, tumbuh liar sebagai gulma dan digunakan sebagai obat. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa akar rumput belulang mengandung senyawa golongan saponin, tanin, alkaloida dan golongan sterol atau terpen (Smedda, 2007). Dari Uji daya antibakteri dilakukan menggunakan ekstrak etanol yang diperoleh dengan cara perkolasi dan ekstrak air yang diperoleh dengan cara infundasi. Ternyata ekstrak etanol dapat menghambat pertumbuhan bakteri *S. typhi* dengan MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) pada konsentrasi 37,5% dan *Sarcina lutea* dengan MIC pada konsentrasi 12,5% (Widiawaruyanti, 1987).

Karena laporan penelitian tentang uji klinis secara *invivo* ekstrak etanol akar rumput belulang terhadap hewan ataupun manusia belum ditemukan, maka peneliti tertarik untuk mempelajari bagaimana efek pemberian ekstrak etanol akar rumput belulang terhadap penurunan jumlah bakteri pada mencit yang diinokulasi *S. typhi*.

METODE

Sampel pada penelitian adalah mencit jantan umur 8-12 minggu dengan berat badan 20-40 gr dan sehat yang ditandai dengan gerakan yang aktif. Total jumlah sampel yang digunakan adalah 20 ekor.

Ekstrak diperoleh melalui metode maserasi. Sebanyak 800 mg ekstrak akar rumput ditimbang dan selanjutnya dilarutkan dalam 10 ml aquades, yaitu 800 mg dalam 10 ml = 80 mg dalam 1 ml, sehingga apabila diambil 0,5 ml (volume maksimum penyuntikan pada mencit secara intraperitoneal) larutan ekstrak di dalamnya terkandung 40 mg ekstrak akar rumput untuk dosis uji III (40 mg/0,5 ml/ekor). Selanjutnya, ditimbang 400 mg dilarutkan dalam 10 ml, 400 mg dalam 10 ml = 40 mg dalam 1 ml, sehingga apabila diambil 0,5 ml larutan ekstrak di dalamnya terkandung 20 mg ekstrak untuk dosis uji II (20 mg/0,5 ml/ekor). Kemudian, ditimbang 200 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 ml, 200 mg dalam 10 ml = 20 mg dalam 1 ml, sehingga apabila diambil 0,5 ml larutan ekstrak di dalamnya terkandung 10 mg ekstrak untuk dosis uji I (20 mg/0,5 ml/ekor).

untuk memperoleh suspensi *McFarland* 0,5, Sebanyak 0,5 ml larutan barium klorida 0,048 M ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,175 %) dicampurkan dengan 9,5 ml larutan asam sulfat 0,18 M (H_2SO_4 1%) dalam labu takar dan dihomogenkan. Suspensi ini digunakan sebagai larutan standar pembanding kekeruhan suspensi bakteri uji.

Bakteri yang akan diuji disuspensikan dengan cara menumbuhkan bakteri dalam media cair yaitu NaCl fisiologis 0,9%. Kekeruhan bakteri diukur hingga sesuai dengan standar *McFarland* 0,5 menggunakan spektrometri 20D pada λ 625 nm sehingga didapatkan jumlah bakteri sebanyak $150 \times 10^6/\text{ml}$. Untuk mendapatkan jumlah bakteri 1×10^6 dalam 0,5 ml (volume maksimum penyuntikan pada mencit secara intraperitoneal), pipet sebanyak 2 ml suspensi bakteri yang telah dibuat sesuai standar *McFarland* kemudian masukkan dalam labu takar. Selanjutnya tambahkan NaCl 0,9%

Tabel 1. Hasil uji statistik perbandingan antara Kelompok Kontrol, Uji I, Uji II dan Uji III

Kelompok	pengenceran I		Pengenceran II		Pengenceran III	
	mean±SD	P	mean±SD	P	mean±SD	P
Kontrol	2.70 x 10 ² ±6.71 x 10 ¹	0.850	26.78±6.60	0.004	2.05±0.87	0.381
Uji I	2.88 x 10 ² ±2.64 x 10 ¹		28.28±3.85		2.30±0.41	
Uji II	3.00 x 10 ² ±0.00		24.74±5.30		1.44±0.28	
Uji III	3.71x 10 ² ±2.55 x 10 ²		7.98±4.45		2.04±1.37	

(Sumber: Data primer penelitian tahun 2013)

Tabel 2. Hasil uji statistik *Mann-Whitney U*

P	Kontrol	Uji I	Uji II	Uji III
Kontrol	-	0.521	0.245	0.008
Uji I	0.521	-	0.067	0.007
Uji II	0.245	0.067	-	0.009
Uji III	0.008	0.007	0.009	-

(Sumber: Data primer penelitian tahun 2013)

sebanyak 98 ml sampai batas tera. Sehingga setiap pengambilan 0,5 ml larutan bakteri didalamnya terkandung 1 x 10⁶.

Mencit jantan diadaptasikan dengan cara dikandangkan, diberi pakan standar dan minum selama tujuh hari. Pada Hari ke delapan dilakukan pengujian. Mula-mula mencit di injeksikan *S. typhi* sebanyak 10⁵ sel per ml per ekor secara intraperitoneal untuk kelompok Kontrol, Uji I, Uji II dan Uji III (Besung, 2011), pada penelitian ini suspensi *S.thyphi* dibuat sebanyak 10⁶ sesuai standar *Mc Farland 0,5*. Setelah dua jam mencit diberi ekstrak dengan menggunakan disposibel 1 ml pada rongga intraperitonial dengan dosis bertingkat dan dibiarkan selama 24 jam untuk kelompok kontrol Uji I, Uji II dan Uji III. Dalam waktu 24 jam diamati suhu tubuh dan tanda-tanda lain yang ditunjukkan oleh mencit. Setelah 24 jam, mencit dimatikan dengan menggunakan eter atau klorofom untuk pengambilan hepar melalui pembedahan dengan scalpel Hepar mencit selanjutnya dihaluskan menggunakan mortar, kemudian dikultur pada *Nutrient Agar (NA)* dan

pertumbuhan koloni *S. thyphi* diamati. Jika terdapat mencit yang mati sewaktu penelitian, maka dilakukan uji Negatif dimana sampel yang hilang diganti yang baru dan mendapat perlakuan yang sama. Jumlah *S. typhi* per gram jaringan pada masing-masing media dihitung dengan rumus sebagai berikut (Murtini, 2006) dan data yang diperoleh dianalisis dengan program komputer *SPSS16.00 for Windows*.

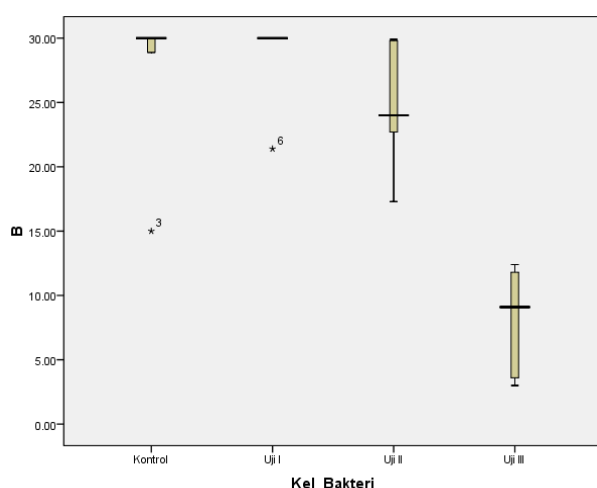
$$\text{Cfu/ gr} = \frac{\text{Jumlah Cfu x Pengenceran x 10}}{\text{(diinokulasikan hanya 0,1 ml per plate)}} \div \text{Berat jaringan}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Normalitas data diuji dengan *Shapiro-Wilk* dan didapatkan data terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) sehingga dilakukan analisis dengan uji *Kruskal Wallis*, dan dilanjutkan uji *Mann whitney U* untuk membandingkan jumlah *S.typhi* antar kelompok. Berdasarkan hasil uji *Kruskal Wallis* (Tabel 1) hanya pada pengenceran II (tabung III) yang memiliki nilai 0,004 ($P = < 0,05$) yang terbukti signifikan memiliki perbedaan jumlah bakteri tiap kelompok. Sehingga hanya pengenceran II (tabung III) yang dilanjutkan ke uji

post hoc yaitu *Mann Whitney U* yang disajikan pada tabel 2.

Hasil uji *Mann-Whitney* dari keempat kelompok didapatkan hasil yang bermakna. Kelompok kontrol dan kelompok uji III (0.008); kelompok uji I dan kelompok uji III (0.007); kelompok uji II dan kelompok uji III (0.009). Sedangkan hasil yang tidak bermakna didapatkan pada kelompok kontrol dan uji I (0.521); kelompok kontrol dan uji II (0.245); kelompok uji I dan uji II (0.067). Jadi ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 40 mg pada uji III dapat menurunkan jumlah *S.typhi* secara bermakna dibandingkan ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 10 mg pada uji I dan ekstrak etanol akar rumput belulang dengan dosis 20 mg pada uji II.



Gambar 1. Grafik box plot hitung jumlah koloni bakteri

Pada box plot (Gambar 1) nampak perubahan jumlah bakteri yang signifikan hanya pada pengenceran ke II (tabung III). Rata-rata jumlah *S. typhi* yang tertinggi pada kelompok mencit uji I dan pada kelompok kontrol, diikuti kelompok uji II, sedangkan pada kelompok uji III mengalami penurunan jumlah dibandingkan dengan kelompok yang lain.

Hasil penelitian diperoleh jumlah rata-rata *S. typhi* pada pengenceran II (tabung III), kelompok kontrol = 26.78, kelompok uji I = 28.28, kelompok uji II = 24.74, dan kelompok uji III = 7.98. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis bertingkat dapat menurunkan jumlah *S. typhi* pada hepar mencit. Namun, jumlah rata-rata *S. typhi* pada kelompok uji I lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol, ini dikarenakan jumlah dosis uji I tidak dapat menurunkan jumlah bakteri *S. typhi*. Menurut Widhiawaruyanti (1978) ekstrak etanol akar rumput belulang sensitif terhadap *S. typhi* pada dosis 11,4 mg, sehingga dosis pada uji I (10 mg) tidak dapat menurunkan jumlah *S. typhi*.

Hasil uji statistik diperoleh perbedaan bermakna jumlah *S. typhi* per jaringan organ pada pengenceran II (tabung III) tiap kelompok mencit, kelompok kontrol, uji I dan uji II lebih tinggi jumlah bakteri dibandingkan dengan kelompok uji III. Hal ini disebabkan oleh kandungan senyawa akar rumput belulang yaitu saponin, tannin, alkaloid, polifenol, sterol dan terpen yang memiliki daya antibakteri.

Ekstrak etanol akar rumput belulang mengandung senyawa saponin, alkaloid, sterol dan terpenoid yang fungsinya dapat menghambat pertumbuhan *S. typhi* dengan cara merusak membran sitoplasma yang menyebabkan bocornya metabolit yang menginaktifkan sistem enzim *S. typhi*. Menurut Jaya (2010) Kerusakan pada membran sitoplasma dapat mencegah masuknya bahan-bahan makanan atau nutrisi yang diperlukan bakteri untuk menghasilkan energi akibatnya bakteri akan mengalami hambatan pertumbuhan dan bahkan kematian.

Ekstrak etanol akar rumput belulang juga mengandung senyawa tanin yang mempunyai daya antibakteri tinggi. Tanin dapat

menghambat sintesis protein dari *S. typhi*, menghambat sintesis dinding sel *S. typhi*, menghambat metabolisme sel *S. typhi*, dan menghambat sintesis asam nukleat dari *S. typhi*. Kandungan lain ekstrak etanol akar rumput belulang adalah polifenol yang fungsinya sebagai antioksidan yang dapat memperbaiki sel yang rusak akibat infeksi dari *S. typhi*.

Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak etanol akar rumput belulang dapat menurunkan jumlah bakteri pada hepar mencit (*M. musculus*) yang di inokulasi *S. typhi*. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol akar rumput belulang memiliki kemampuan sebagai antibakteri terhadap *S. typhi*.

Pada penanganan demam tifoid salah satu pilihan antibiotik yang digunakan adalah kloramfenikol dosis 500 mg. Jika antibiotik ini dikonversi dari dosis manusia ke mencit, maka didapatkan dosis yang dibutuhkan untuk menghilangkan *S. typhi* pada jaringan hepar adalah 65 mg. Sehingga, dosis ekstrak etanol akar rumput belulang masih dapat ditingkatkan dibanding dosis pada penelitian penelitian ini, sehingga didapatkan dosis yang baik untuk menghilangkan jumlah *S. typhi* pada jaringan hepar mencit.

Namun demikian, secara statistik pada pengenceran I (tabung II) dan Pengenceran III (tabung IV) tidak terdapat perbedaan yang bermakna dalam penurunan jumlah bakteri antara kelompok kontrol dan kelompok uji yang diberi ekstrak etanol akar rumput belulang dosis bertingkat. Hal ini mungkin karena adanya faktor lain seperti kontaminasi saat kultur di tambah lagi adanya jumlah koloni yang tidak terdistribusi secara normal sehingga hasil statistik menunjukkan perbedaan yang tidak bermakna.

Faktor lain berupa kontaminan yang mungkin terjadi pada saat menggunakan pipet ke tiap-tiap tabung

saat pengenceran. Selain itu, jumlah *S. typhi* yang seharusnya diinjeksikan adalah 1×10^5 (Isselbacher, 1999). tetapi suspensi yang tersedia adalah 1×10^6 . Adapula faktor lain, yaitu daya tahan tubuh alamiah masing-masing mencit terhadap infeksi *S. typhi* serta adanya dosis ekstrak etanol akar rumput belulang yang digunakan belum cukup kuat untuk dapat menurunkan atau menghilangkan jumlah koloni bakteri pada hepar mencit yang diinokulasi *S. typhi*.

SIMPULAN

Dari penelitian ini didapatkan bahwa ekstrak etanol akar rumput belulang dapat memberi pengaruh terhadap penurunan jumlah koloni bakteri mencit yang diinokulasi *S. typhi*. Secara statistik terdapat perbedaan yang bermakna dalam hal penurunan jumlah koloni *S. typhi* antara kelompok pada pengenceran II (tabung III) yang diberi ekstrak etanol akar rumput belulang dosis bertingkat 10 mg, 20 mg dan 40 mg dengan kelompok kontrol yang tidak diberi ekstrak. Dalam penelitian ini, dosis ekstrak etanol akar rumput belulang yang dapat menurunkan jumlah *S. typhi* pada mencit yang diinokulasi *S. typhi* adalah dosis 20 mg dan 40 mg. Namun, dosis yang paling bermakna menurunkan jumlah bakteri adalah dosis 40 mg pada kelompok uji III.

Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang pengaruh pemberian ekstrak etanol akar rumput belulang sebagai antibakteri dengan dosis yang lebih tinggi, sehingga dapat menentukan dosis optimum dalam menurunkan dan menghilangkan jumlah bakteri pada hepar mencit yang diinfeksi *S. typhi*. Selain itu, Perlu pula membandingkan ekstrak etanol akar rumput belulang dengan antibiotik standar untuk mengetahui mana yang paling efektif dalam menurunkan jumlah *S. typhi*.

DAFTAR PUSTAKA

- Cleary, T. G. 2003. *Salmonella species in longess, Pickerling LK, Praber CG. Principles and Practice of Pediatric Infectious Disease* Churchill Livingstone, edisi 1. New York.
- Habibah, 2010. *Tanaman Obat. Tugas Individu*. Makalah .Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Hadinegoro., Rezeki, S. 1999. *Cermin Dunia Kedokteran, Masalah Multi Drug Resistance pada Demam Tifoid Anak*. Pt. Kalbe Farma. Jakarta.
- Isselbacher, K.J., Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. 1999.
- Jaya, a.m. 2010. *Isolasi Dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin Dari Akar Putri Malu (Mimosa Pudica)*. Skripsi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Murtini, s. 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Salam (Syzygium polyanthum) dengan Dosis 540 mg Terhadap Hitung Jumlah Koloni Kuman Salmonella typhimurium pada Hepar Mencit Balb/c yang diinfeksi Salmonella typhimurium*. Karya Tulis Ilmiah FK Universitas Diponegoro Semarang.
- Smeda. 2007. *Eleusine Indica (L.) Gaertn.* Diambil dari: http://www.smeda.com/ttg_pangan_kesehatan2/artikel/ttg_tanaman_obat/depkes/buku4/4-034.pdf>. Diakses pada 12 juni, 2012.
- Widoyono. 2011. *Penyakit Tropis, Epidemiologi, Penularan, Pencegahan, dan Pemberantasannya*, Edisi II Erlangga, Jakarta
- Widiawaruyanti, a. 1987. *Uji Antibakteri Ekstrak Akar Rumpun Belulang (Eleusine indica gaertn)*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Jakarta.